«6D070100-Биотехнология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін диссертацияның АНДАТПАСЫ

Айсина Дана Евгеньевна

Сүт безі ісігінің дамуына қатысатын гендердің mRNA-мен miRNA-дың байланысуы

Жұмыстың жалпы сипаттамасы

Бұл жұмыс miRNA-ның сүт безі қатерлі ісігінің дамуына жауапты гендерінің mRNA мен miRNA-ның өзара әрекеттесуін зерттеуге және сүт безі қатерлі ісігінің ерте диагностикасы үшін miRNA және кандидаттық гендер ассоциациялар негізінде жаңа диагностикалық маркерлерді іздеуге арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі

Сүт безі ісігінің (СБІ) бүкіл әлемдегі барлық ісік ауруларының арасында бірінші орындардың бірі болып табылады. Қазақстан мен басқа елдердегі соңғы жылдардағы статистика мәліметтері сүт безі қатерлі ісігінің ауру мен өлім-жітімінің күрт өсуін көрсетеді.

Сонғы кезде, негізгі биологиялық үрдістерге атап айтқанда пролиферация, дифференциация, ангиогенез, миграция, апоптоз және канцерогенезге жауапты гендердің пост-транскрипциялық реттелуінде маңызды рөл атқаратын miRNA-ның сүт безі қатерлі ісігінің диагностикасы бойынша көптеген зерттеулер жүргізілді. Сүт безі қатерлі ісігіне байланысты гендер олардың пост-транскрипциялық деңгейде экспрессиясын реттейтін miRNA үшін нысаналар болуы мүмкін. Қазіргі уақытта дүниеде әлі де сүт безі қатерлі ісігімен байланысты гендердің және miRNA-ның толық базасы жоқ. Сондықтан miRNA-ның және гендердің ассоциациялары сүт безі қатерлі ісігінің диагностикасы үшін және оның туындауы мен дамуында негізгі рөл атқаратын, оның субтиптерін анықтау үшін биомаркерлер болуы мүмкін.

Жұмыстың мақсаты: miRNA-ның сүт безі қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендердің mRNA-мен өзара әрекеттесу ерекшеліктерін зерттеу.

Зерттеудің міндеттері:

1. miRNA-ның және сүт безі қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендердің деректер базасын құру.
2. *E2F* отбасы гендерінің mRNA-да miRNA-ның байланысу сайттарының сипаттамаларын және miR-1322 сүт безі қатерлі ісігінің дамуына қатысуына анықтау.
3. miRNA-ның сүт безі қатерлі ісігінің HER2 субтипін дамытуға қатысатын гендердің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің сипаттамаларын анықтау.
4. miRNA-ның сүт безі қатерлі ісігінің luminal A және B субтиптерін дамытуға қатысатын гендердің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің сипаттамаларын анықтау.

5. miRNA-дың сүт безі қатерлі ісігінің triple-negative субтипін дамытуға қатысатын гендердің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің сипаттамаларын анықтау.

6. miRNA-5p және miRNA-3p жұптарының және нысана гендердің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің ерекшеліктерін анықтау.

7. Сүт безі қатерлі ісігінің диагностика әдістерін өндеу үшін miRNA және гендердің mRNA-мен ассоциацияларын анықтау.

Зерттеу объектілері: адамның сүт безі қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендердің mRNA-мен miRNA-ның нуклеотидті тізбектері.

Зерттеу пәні: сүт безі қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендердің mRNA-мен miRNA-ның өзара әрекеттесу ерекшеліктері.

Зерттеу әдістері. MiRTarget бағдарламасының көмегімен сутектік байланыстарды модельдеу негізінде гендердің mRNA-да miRNA-ның байланысу сайттарын болжаудың компьютерлік әдістері.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы. Зерттеудің ғылыми жаңалығы мен өзіндік ерекшелігі miRNA-ның сүт безі қатерлі ісігінің дамуымен байланысты гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің алғашқы анықталған сипаттамаларына негізделген. miRNA-ның әрекеттесу сайттары нысана гендерінің mRNA-ның 5'UTR, CDS және 3'UTR-де анықталған.

Алғаш рет сүт безі қатерлі ісігінің 602 кандидатты гендерінен тек *E2F3* генінің mRNA CDS-де 22 miRNA-ның бірнеше сайттары бар екені анықталды. mRNA-мен miRNA-ның байланысу сайттарының өзара әрекеттесуі бұрыннан қалыптасқандығы және зерттелген жануарлар түрлердің миллиондаған жылдар бойы дивергенциясы кезінде өзгермегені анықталған.

Алғаш рет сүт безі қатерлі ісігінің кандидатты гендерінің mRNA-да miRNA-ның байланысу сайттарының кластерлік ұйымдасуы анықталған.

Алғаш рет сүт безі қатерлі ісігінің HER2, luminal A және B, triple-negative (basal-like) субтиптерінің кандидатты гендерінің mRNA-да miRNA-ның байланысу сайттарының сипаттамалары анықталды.

Алғаш рет сүт безі қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендерінің mRNA-мен miRNA-ның ассоциациялары анықталды, олар диагностикалық маркер ретінде ұсынылады.

Жұмыстың теориялық маңыздылығы miRNA-ның сүт безі қатерлі ісігінің субтиптері гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің сандық сипаттамаларын анықтау және байланысу сайттарының кластерлік ұйымдастыруын анықтау болып табылады. Байланысу сайттарының осындай ұйымдасуы кластермен miRNA-ның өзара әрекеттесу кезінде бәсекелестікті тудырады және байланысу сайттар орналасқан mRNA бөлігін азайтады.

Зерттеудің практикалық маңызы miRNA мен нысана гендердің ассоциацияларын пайдалана отырып, сүт безі қатерлі ісігінің ерте диагностика әдістерінің негіздерін өндеу болып табылады.

Алынған нәтижелері «Диагностика және терапиядағы бионанотехнологиялар» пәнді оқыған кезде қолданылады.

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

Сүт безі қатерлі ісігінің 602 кандидатты гендерінен 325 кандидатты гені miRNA-ның нысандары болып табылады және олардың экспрессиясы осы miRNA-мен реттелуі мүмкін. miRNA-ның байланысу сайттарының 5'UTR, CDS және 3'UTR-де таралуы әрбір ген үшін ерекше.

Кандидатты гендерінің көпшілігі бір немес бірнеше miRNA-ның нысаналары болып келеді, олардың байланысу сайттары mRNA-да бір біреуінен жекеленген. Басқа кандидатты гендерінің mRNA-да miRNA-ның байланысу сайттары нуклеотидтік тізбектерінің қалыптасуымен орналасқан, екі немесе одан да көп miRNA-ның байланысу сайттарының кластерлерін түзіп.

HER2, luminal A және B, triple-negative субтиптері үшін miRNA және кандидатты гендерінің mRNA-ның арнайы ассоциациялары бар.

Бір pre-miRNA-нан түзілетін miRNA-5p және miRNA-3p бірнеше жұптары олардың нысана гендерінің mRNA-мен өзара комплементарлы әрекеттеседі.

Негізгі зерттеу нәтижелері мен қорытындылары:

Жұмыста алынған нәтижелер келесі қағидалар жасауға мүмкіндік береді. Жұмыста анықталған miRNA-ның E2F транскрипциялық фактор отбасы гендерінің mRNA-мен байланысу сипаттамалары *E2F* отбасының гендер экспрессиясының көпшілік miRNA-мен реттелу мүмкіндігін көрсетеді. Клеткалық циклге (*E2F1-E2F3*) және апоптозға (*E2F4-E2F8*) қатысатын гендер miRNA-ның әсеріне әр түрлі дәрежеде ұшырайды.

miR-1322 үшін нысана бола алатын сүт безі қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендер анықталды. Осы гендердің mRNA-ның ерекшелігі miR-1322 байланысу сайттарының гомоолигопептидтерді кодтауы болып келеді.

mRNA-да miRNA-ның байланысу сипаттамалары сүт безі қатерлі ісігінің әрбір субтиптері үшін ерекше және сүт безі қатерлі ісігінің ерте диагностикасы үшін ассоциациялар тандағанда қолданылуы мүмкін. Кандидатты гендердің әрбір тобында miRNA-ның және олардың нысана гендерінің ассоциациялары бар, олар өзара әрекеттесудің жоғары дәрежесіне ие және HER2, luminal A және B, triple-negative субтиптерінің ерте диагностика әдістерін өндеу үшін маркер бола алады.

miRNA-дың барлық субтиптер гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесуінің орташа бос энергиясы 5'UTR және CDS-де 3'UTR-мен салыстырғанда жоғары, бұл miRNA-ның 5'UTR және CDS-де жақсырақ байланысуын дәлелдейді.

mRNA-да екі немесе одан да көп қалыптасқан байланысу сайттарының олардың нуклеотидтік тізбектерінің қалыптасуымен кластерлерге орналасуы mRNA-ның нуклеотидтік тізбегіндегі байланысу сайттардың үлесін бірнеше рет азайтуға мүмкіндік береді. miRNA-ның байланысу сайттарының miRNA арасында байланысу сайт үшін бәсекелестікті тудырады, өйткені RISC және бос әсерлесу энергиясының мөлшері бар miRNA кешені басқа mRNA-мен әлсіз әрекеттесетін RISC және miRNA кешенін байланысуға мүмкіндік бермейді.

17508 адам гендерінен *FOXF2, PLPPR3, KIAA2026, GLYCTK* және *CCDC42B* гендері miRNA-ның нысандары болып табылады, олар олардың mRNA-мен толық комплементарлы байланысады.

Зерттелген жануарлар түрлердің он миллиондаған жылдар бойы дамыған эволюциясының *FOXF2, PLPPR3, KIAA2026, GLYCTK* және *CCDC42B*

гендеріндегі miRNA-ның байланысу сайттарының жоғары консервативтілігі осы гендердің экспрессиясының miRNA-делдалдық реттеуі жануарлардың эволюциясының ерте кезеңдерінде пайда болғанын растайды. Бес miR-5p/miR-3p жұптарының *FOXF2, PLPPR3, KIAA2026, GLYCTK* және *CCDC42B* гендерінің mRNA-мен ассоциациялары сүт безі қатерлі ісігінің ерте диагностикасы әдістерін өндеу үшін негіз бола алады.

Зерттеу нәтижесінде келесі **қорытындылар** жасауға болады:

1. MirTarget бағдарламасының форматында miRNA-ның нысана гендерінің mRNA-мен өзара әрекеттесу сипаттамаларын есептеу үшін 6226 miRNA және сүт безі қатерлі ісігінің 602 кандидатты гендердің дерекқорлары жасалды. Сүт безі қатерлі ісігінің HER2, luminal A және B, triple-negative субтиптерінің кандидатты гендері тандалды.
2. miRNA-ның клеткалық циклге (*E2F1-E2F3*) және апоптозға (*E2F4-E2F8*) қатысатын E2F транскрипциялық фактор отбасы гендерінің mRNA-мен байланысу сипаттамалары анықталды. Кейбір сүт безі қатерлі ісігінің дамуына қатысатын гендер miR-1322 үшін нысана болып келеді, байланысу полисайттар олигопептидтерді кодтайды.
3. Сүт безі қатерлі ісігінің HER2 субтипінің 31 кандидатты гендерінің mRNA-мен miRNA-ның байланысу сайттарының басы мен орналасуы анықталды, miRNA-ның mRNA-мен өзара әрекеттесуінің бос энергиясы есептелді және нуклеотидтерінің байланысу схемалары құрастырылды.
4. Сүт безі қатерлі ісігінің luminal A және B субтиптерінің 20 кандидатты гендерінің mRNA-мен miRNA-ның байланысу сайттары 5'UTR, CDS және 3'UTR-де анықталды, олардың құрылымдық ұйымдасуына болжам берілді, miRNA-ның mRNA-мен өзара әрекеттесуінің бос энергиясы есептелді және нуклеотидтерінің байланысу схемалары құрастырылды.
5. Сүт безі қатерлі ісігінің triple-negative субтипінің 50 кандидатты гендерінің mRNA-мен miRNA-ның mRNA-мен өзара әрекеттесуінің бос энергиясы есептелді, байланысу сайттарының басы мен орналасуы анықталды, нуклеотидтерінің байланысу схемалары құрастырылды.
6. Сүт безі қатерлі ісігінің 101 кандидатты гендерінің mRNA-да miRNA-ның байланысу сайттарының локализациясы анықталды. 25 гендерінің mRNA-да екі немесе одан да көп miRNA-ның байланысу сайттарының кластерлерге ұйымдасуы анықталды. Байланысу сайттарының кластерлік ұйымдасуы олардың компактизациясына және кластерде miRNA-ның байланысу бәсекелесіне алып келеді.
7. Ортологиялық *FOXF2, PLPPR3, KIAA2026, GLYCTK* және *CCDC42B* гендерінің mRNA-мен miRNA-5p және miRNA-3p жұптарының байланысу сайттарының сипаттамалары анықталды, олар жақын болды, бұл гоминидтердің miRNA-ның mRNA-мен байланысының ерте пайда болуын және жоғары консервативтілігін көрсетеді. Сүт безінің қатерлі ісігінің диагностика әдістерін өндеу үшін miRNA-5p және miRNA-3p жұптарының нысана гендерінің mRNA-мен ассоциациялары анықталды.

8. Сүт безі қатерлі ісігінің HER2, luminal A и B, triple-negative субтиптерінің диагностика әдістерін өндеу үшін miRNA-ның және кандидатты гендерінің жеті, жеті және 11 сәйкесінше ассоциациялары құрылды.

Диссертацияда қойылған барлық міндеттер орындалды.

Негізгі ғылыми жұмыстар жоспарымен байланыс. Диссертациялық жұмыс Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің № AP05132460 AP05132460 «miRNA мен олардың нысана гендерінің ассоциацияларына негізделген жүрек-қан тамыр, онкологиялық және нейродегенеративті ауруларды ерте диагностикалау үшін тесттік жүйелерді өндеу» жоба ішінде жүзеге асырылды.

Жұмыстың апробациясы. Диссертациялық жұмыстың материалдары баяндалды және талқыланды:

- «Фараби әлемі» студенттері мен жас ғалымдарының халықаралық ғылыми конференцияларында, әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Алматы, 2017, 2018 жж.;
- «Биотехнология, экология және физика-химиялық биологияның өзекті мәселелері» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясында, Алматы қ., 6-7 сәуір, 2017 ж.;
- «Biotechnology: state and development prospects» IX Халықаралық конгрессінде, Мәскеу, Ресей, 20-22 ақпан, 2017 ж.;
- «High-throughput sequencing in genomics» II Бүкілресейлік конференциясында, Новосибирск, Ресей, 18-23 маусымы, 2017 ж.;
- «The science of the new time: from idea to result» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясында, Санкт-Петербург, Ресей, 18-19 тамыз, 2017 ж.;
- «Clinical proteomics. Postgenomic medicine» халықаралық конференциясында, Мәскеу, Ресей, 30 қазан - 1 қараша, 2017 ж.;
- «Biotechnology: state and development prospects» халықаралық форумында, Мәскеу, Ресей, 23-25 мамыр, 2018ж.;
- BGRS/SB-2018 11-ші «Integrative Bioinformatics and Systems Biology» халықаралық конференциясында, WIBSB-2018, Новосибирск, Ресей, 22-23 тамыз, 2018 ж.;
- «Molecular phylogenetics and biobanking biodiversity» халықаралық конференциясында (Molphy-5), Мәскеу, Ресей, 25-28 тамызы, 2018 ж.;
- «Biological markers in fundamental and clinical medicine» халықаралық конференциясында, Прага, Чехия, 31 қазан - 2 қараша, 2018 ж.;
- «Biotechnology: state of the art and perspectives» халықаралық конгрессінде, Мәскеу, Ресей, 25-27 ақпан, 2019 ж.;
- «Есептеу молекулалық биологиясы бойынша MCCMB'19 9-шы Мәскеу конференциясы» халықаралық конференциясында, Мәскеу, Ресей, 27-30 шілде, 2019 ж.

Басылымдар. Диссертацияның негізгі мазмұны 25 басылымда, соның ішінде Web of Science келтірілген импакт-факторы бар халықаралық журналдарда 1 мақалада; Білім және ғылым саласындағы бақылау комитетінің

тізімі бойынша республикалық ғылыми журналдарда 9 мақалада; халықаралық конференциялар басылымдарында 15 тезистерде көрсетілген.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертация 125 бетте берілген және келесі бөлімдерден тұрады: белгілер мен қысқартулар, әдебиеттерге шолу, материалдар мен әдістер, нәтижелер мен талқылаулар, қорытындылар, 290 әдебиеттен тұратын пайдаланылған көздердің тізімі; 60 кестелер мен екі сурет бар.